

Dinamika kemostata

Poje, Margareta

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:993944>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Margareta Poje

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Margareta Poje

DINAMIKA KEMOSTATA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Ivica Gusić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Ivica Gusić
doc. dr. sc. Miroslav Jerković
prof. dr. sc. Irena Škorić

Zagreb, rujan 2018.

Zahvaljujem mentoru, Prof. dr. sc. Ivici Gusiću, na stručnom vodstvu, konstruktivnim savjetima i pomoći tijekom izrade ovog rada.

Sažetak

DINAMIKA KEMOSTATA

Opisan je matematički model koji simulira procese u kemostatu, zasnovan na autonomnom sustavu od dvije diferencijalne jednačbe. Sustav je rješavan pomoću programskog paketa MATLAB R2018a. Rezultati su prikazani grafički i numerički za zadane vrijednosti parametara i početnih uvjeta. U modelu se, bez obzira na početne uvjete, uz fiksne parametre (K_{maks} , K_m , D , α i C_{spr}) ravnotežne koncentracije mikroorganizama i hranjivih tvari ne mijenjaju. Nadalje, smanjenje koeficijenta iskorištenja α (uz ostale fiksirane parametre) rezultira obrnuto proporcionalnim povećanjem populacije bakterija pri ravnotežnom stanju, a nema utjecaja na ravnotežnu koncentraciju hranjiva. Pokazano je da, uz predloženi izbor parametara, sve trajektorije teže fiksnoj točki neovisno o početnim uvjetima.

Ključne riječi: kemostat, diferencijalna jednačba, MATLAB, dinamika kemostata, Monodova kinetika

Abstract

DYNAMIC OF THE CHEMOSTAT

A mathematical model, based on the autonomous system of two differential equations, for simulation of processes in the chemostat is described. The system is solved using the software package MATLAB R2018a. The results are presented graphically and numerically for given parameters and various initial conditions. Regardless of the initial conditions, with fixed parameters (K_{max} , K_m , D , α and C_r), concentrations of microorganisms and nutrient remain unchanged at equilibrium. Furthermore, decrease of the nutrient utilization coefficient α (with other parameters fixed) resulted in an inversely proportional increase of the bacterial population at equilibrium, but without influence on the concentration of nutrient. It has been shown that all trajectories converge to the fixed point, independently of the initial conditions.

Key words: chemostat, differential equation, MATLAB, chemostat dynamics, Monod kinetics

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1 Povijesni pregled.....	2
2.2 Rast bakterijske kulture.....	4
2.3 Dinamički sustavi.....	5
2.3.1 Autonomni dinamički sustavi dviju varijabla	5
2.3.2 Dinamika kemostata	9
2.3.2.1 Izvođenje matematičkog modela	9
2.3.2.2 Koeficijent $K(C)$	10
2.3.2.3 Rubni slučajevi	11
3. PREGLEDNI DIO.....	13
4. REZULTATI	15
5. RASPRAVA	31
6. ZAKLJUČAK.....	33
7. POPIS SIMBOLA	34
8. LITERATURA	35
9. PRILOZI	36
10. ŽIVOTOPIS.....	39

1. UVOD

Kemostat je uređaj koji služi za eksperimentalno proučavanje rasta mikroorganizama. Glavne su mu karakteristike kontinuirani rad i homogenost hranjivoga medija. Omogućuje proučavanje stanica mikroorganizama u stacionarnim uvjetima kao i djelovanje na ravnotežna stanja. Iako mu je uporaba u početku bila ograničena uglavnom na proučavanje čistih bakterijskih kultura, nedugo nakon toga počeo se široko primjenjivati u mikrobiologiji. To slijedi primjena u proučavanju utjecaja rasta mikrobnih kultura na okoliš i obrnuto. Sve češće se koristi u istraživanjima na području ekologije, evolucijske biologije i genetike. U praktičnoj primjeni pogodan je za istraživanja povezana s obradom otpadnih voda, istraživanja obnovljive energije iz biomase te raznim biotehnološkim procesima.

Kemostat je bio predmetom brojnih publikacija i knjiga. Iz literature se vidi da je, uz fiksne vanjske uvjete te definirane parametre, model kemostata odličan za proučavanje dinamike vrlo kompleksnih ekosustava.^{1,2}

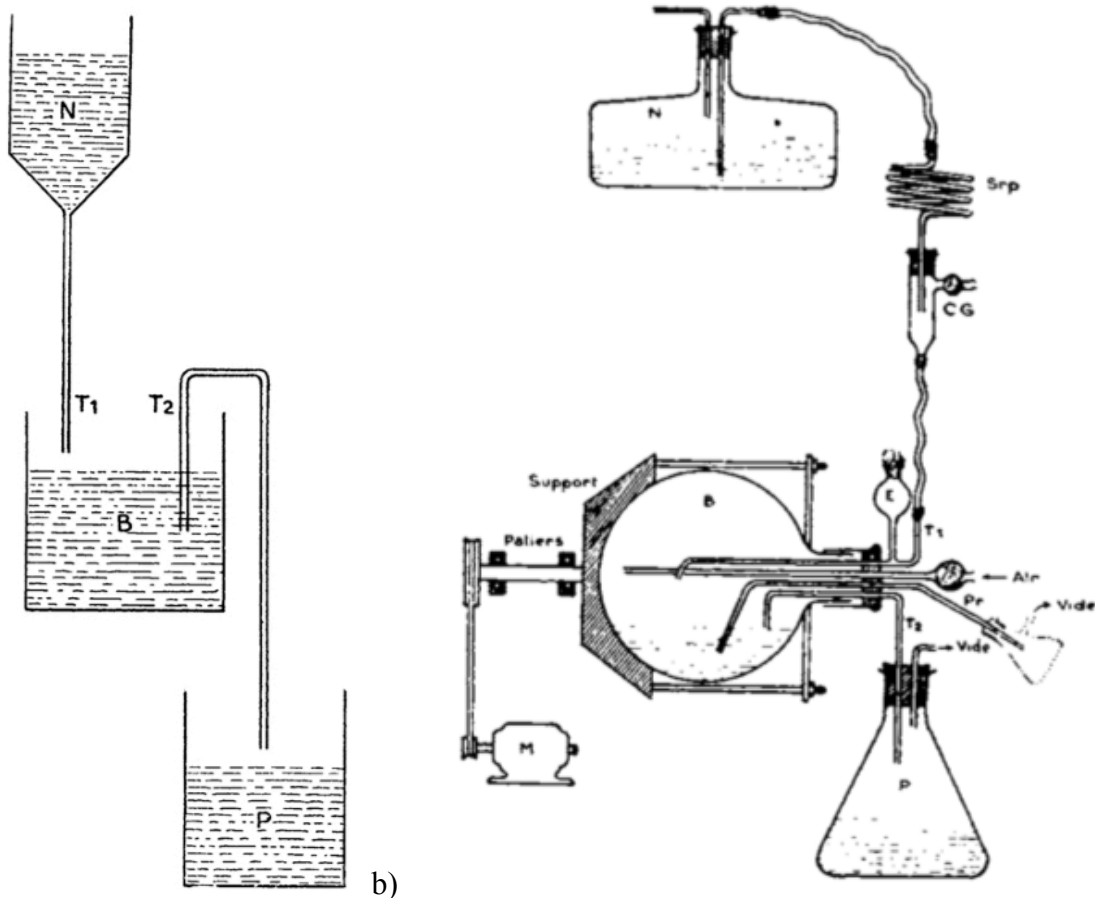
U teorijskom dijelu dan je povijesni pregled povezan s otkrićem i važnošću kemostata. Posebna pozornost posvećena je izumiteljima ove tehnike za kontinuirani uzgoj bakterija. Pritom su korištene ilustracije iz njihovih originalnih radova. Opisane su karakteristike uređaja i procesa koji se u njemu odvijaju. Nakon toga opisan je matematički model dinamike kemostata zasnovan na sustavu diferencijalnih jednadžbi (dinamički sustav) sa svim relevantnim parametrima. Opisano je numeričko rješavanje tog dinamičkog sustava te su rješenja sustava prikazana grafovima i tablicama.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Povijesni pregled

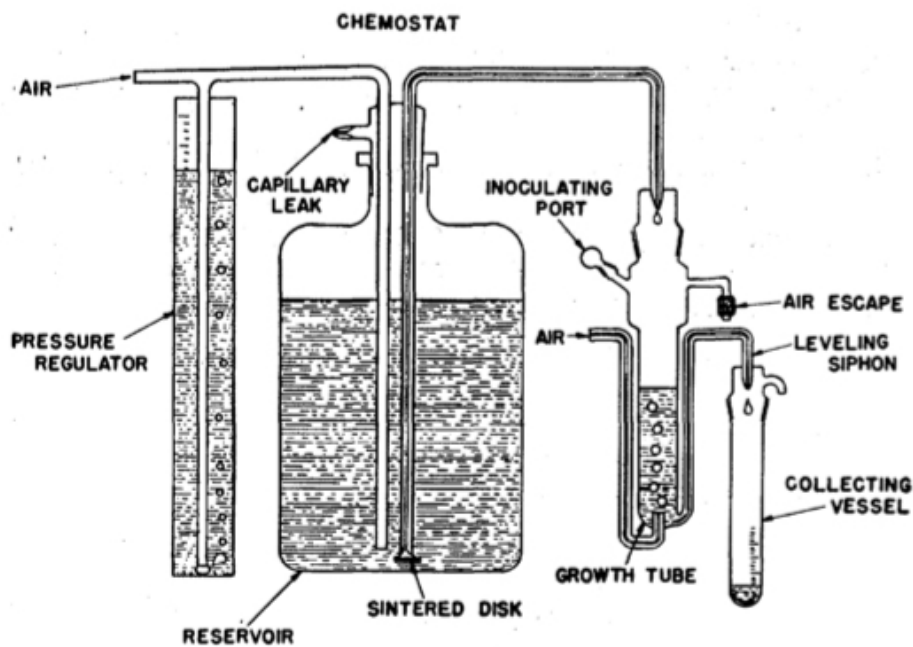
Kemostat su 1950-ih godina gotovo istodobno i neovisno razvili Monod^{3,4} te Novick i Szilard.^{5,6} Monod je opisao i jednadžbe kemostata i primjer eksperimentalnog uređaja (slika 1.) koji omogućuje kontinuirani uzgoj mikroorganizama uz kontrolu rasta putem reguliranja ulazne brzine. Nazvao ga je baktogen (fr. bactogène).^{3,4} Monodov model podsjeća na Michaelis-Menteničin model za kinetiku enzimske katalize.

Pri rastu mikroorganizama situacija je bitno složenija jer je u pitanju velik broj intracelularnih reakcija pa je model ovisnosti samo o jednom supstratu koji ograničava rast stanica, prva ozbiljna simplifikacija.



a) Monodova shema kemostata. b) Izvedba uređaja za kontinuirani rast. N - hranjivo, Srp - spiralna kapilara, CG - brojač kapi, B - rotirajuća tikvica s okruglim dnom, T₁ - cijev za dotok, E - naciepljivanje bakterija, Pr - odvod, T₂ - razinska cijev, P - produkt; M - motor.⁴

U kemostatu mikroorganizmi rastu u posudi B povezanoj sa spremnikom za hranjivo R (slika 1.a) koje se može kontinuirano dodavati željenom brzinom. Izlaznom se cijevi iz B izvlači volumen mikroorganizama jednak volumenu hranjiva koji se dodaje. Uvodi se zrak i smjesa homogenizira miješanjem.⁴



Slika 2. Shema kemostata⁵

Novick i Szilard razvili su jednostavniji uređaj (slika 2.) i predložili naziv kemostat (eng. chemostat). Sastoji se od posude s mikroorganizmima i supstratom, ulaznog otvora koji omogućuje dotok hranjiva iz spremnika u sustav i izlaznog otvora kroz koji se uklanjaju mikroorganizmi i supstrat iz reakcijske posude. Održava se stalan volumen te stalne i jednake ulazne i izlazne brzine. Tako se prilagodbom brzina na ulazu i izlazu iz uređaja može fiksirati brzina rasta mikroorganizama pri ravnoteži.^{5,6}

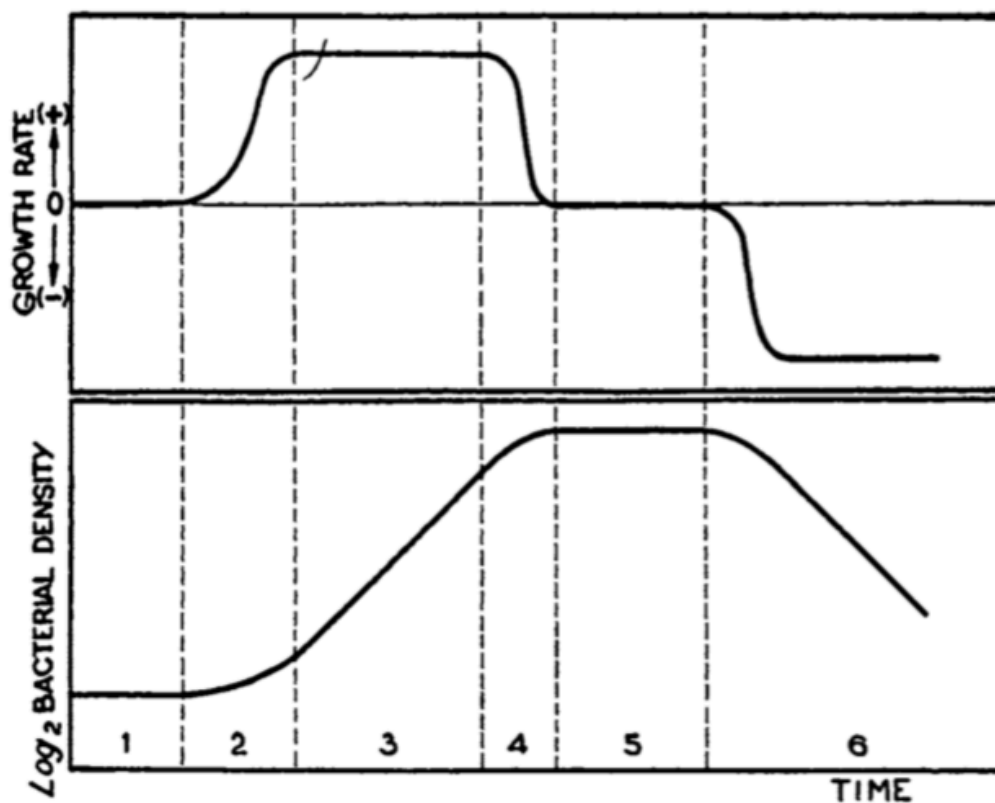
Izvedba modernih kemostata neusporedivo je bolja i ima daleko veće mogućnosti kontrole procesa. Rast u stacionarnom stanju osobito je prikladan za matematičko modeliranje i kvantitativnu analizu mikrobne aktivnosti.^{1,2,7,8}

2.2 Rast bakterijske kulture

Proces rasta mikroorganizama ima sljedeće faze:

1. faza prilagodbe (lag-faza): stopa rasta je jednaka nuli
2. faza ubrzanja: stopa rasta se povećava
3. eksponencijalna faza: stopa rasta je konstantna
4. faza usporavanja: stopa rasta se smanjuje
5. stacionarna faza: stopa rasta jednaka je nuli
6. faza opadanja: stopa rasta je negativna

To je općeniti prikaz rasta bakterijske kulture. Neke faze mogu izostati, ali se mogu pojaviti složeniji ciklusi rasta.³



Slika 3. Faze rasta. Gornja krivulja prikazuje promjene stope rasta, a donja logaritama gustoće bakterijske kulture.³

Široki spektar mogućnosti primjene kao prikladnoga modela u najrazličitijim područjima, objašnjava stalni interes za simulaciju dinamike kemostata.

2.3 Dinamički sustavi

2.3.1 Autonomni dinamički sustavi dviju varijabla

Mnogi problemi u inženjerstvu su dvodimenzionalni. To znači da u njima sudjeluju dvije vrste međusobno ovisnih veličina x i y koje se mijenjaju s vremenom t . Matematički model te situacije zasnovan na razmatranju brzine promjena x i y zove se dinamički sustav. On se sastoji od sustava od dvije diferencijalne jednačbe oblika:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= f(x,y,t) \\ \frac{dy}{dt} &= g(x,y,t)\end{aligned}\tag{1}$$

Tu je $\frac{dx}{dt}$ brzina promjene veličine x , a $\frac{dy}{dt}$ brzina promjene veličine y . Umjesto $\frac{dx}{dt}$ često se piše x' , a y' umjesto $\frac{dy}{dt}$.

Dinamički sustav je autonoman ako se $\frac{dx}{dt}$ i $\frac{dy}{dt}$ mogu zapisati kao funkcije x odnosno y :

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= f(x,y) \\ \frac{dy}{dt} &= g(x,y)\end{aligned}\tag{2}$$

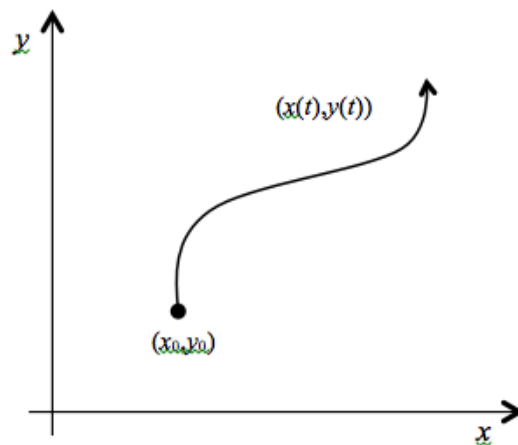
Ako su $f(x,y)$, $g(x,y)$ linearne funkcije sustav je linearan, a ako je bar jedna od njih nelinearna sustav je nelinearan.

Intuitivno, ako su u trenutku t vrijednosti tih dviju veličina x i y , za mali vremenski pomak Δt veličina x promijeni se približno za $f(x,y)\Delta t$ i y približno za $g(x,y)\Delta t$. Ponašanje veličina x,y može se grafički predočiti vektorskim poljem. Grafički se traži skup usmjerenja i sve crta u xy ravnini tako da se vremenska varijabla ne vidi. Za svaku točku (x,y) radi se strjelica tako da se vrijednost $f(x,y)$ nanosi horizontalno, a $g(x,y)$ vertikalno. Jednostavno rečeno: u točki $(x(t),y(t))$ crta se vektor $x(t)\vec{i} + y(t)\vec{j}$. Vektorsko polje sustava prikazano je stjelicama koje mogu imati različite duljine. Kad su sve strjelice iste duljine vektori su normirani, a to je skup usmjerenja sustava.

Nedostatak takvog prikazivanja je izostanak informacije o vremenu t .⁹

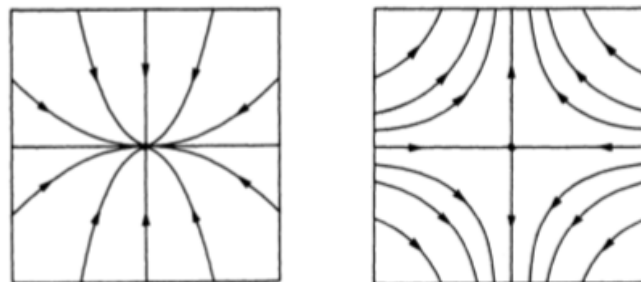
Rješenje autonomnog sustava je svaki par funkcija $x(t), y(t)$ ovisnih o t , koje zadovoljavaju (2). Sustav ima beskonačno mnogo rješenja koji ovise o dva neodređena parametra. Ako se zadaju početni uvjeti, tj. vrijednosti $x(0)$ i $y(0)$ onda je rješenje sustava jedinstveno. Općenito se sustav može riješiti samo numerički.

Početne vrijednosti sustava su vrijednosti x i y u vremenu $t = 0$. Za izabrane početne vrijednosti (x_0, y_0) **trajektorija** (putanja, orbita) s početkom u (x_0, y_0) je krivulja koja se sastoji od svih točaka $\{(x(t), y(t)) : t \in \mathbf{R}, x(0) = x_0, y(0) = y_0\}$.



Slika 4. Trajektorija s početnom točkom (x_0, y_0)

Točka (x_0, y_0) prikazuje stanje sustava u $t = 0$ (početak trajektorije), a točka $(x(t), y(t))$ stanje u vremenu t . Trajektorija prikazuje život sustava.^{9,10}



Slika 5. Primjeri faznih portreta¹⁴

Fazni portret je reprezentativni skup rješenja u $x - y$ ravnini. Sadrži nekoliko trajektorija koje pokazuju opći karakter sustava.⁹

Stacionarne točke su rješenja sustava $\frac{dx}{dt} = \frac{dy}{dt} = 0$. U sustavu dviju autonomnih diferencijalnih jednadžbi fiksne (ravnotežne) točke mogu biti **stabilne** (ako svaka orbita koja počinje blizu te točke i ostaje blizu nje), **nestabilne** ili **asimptotski stabilne** (ako svaka orbita koja počinje blizu te točke konvergira prema njoj).

Sustav koji je u nekom trenutku u ravnotežnoj točki i dalje će ostati u njoj. Ako sustav pomaknemo iz ravnoteže (malom promjenom vrijednosti veličina x,y) postoji nekoliko mogućnosti:

1. Sustav se vraća u ravnotežu, a ravnotežna točka je **ponor** (asimptotski stabilna ravnotežna točka).



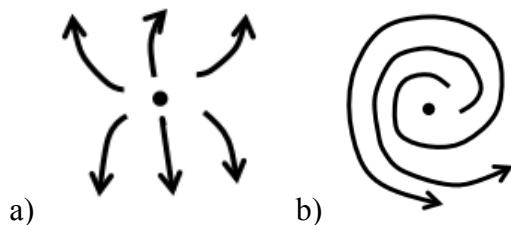
Slika 6. a) Ponor - čvor b) Ponor - fokus

2. Sustav se ne vraća u ravnotežu, ali se ne udaljava od nje nego orbita kruži oko nje, a ravnotežna točka je **središte** (stabilna ravnotežna točka)



Slika 7. Središte

3. Sustav se udaljava od ravnotežne točke koja se naziva **izvor** (nestabilna ravnotežna točka)



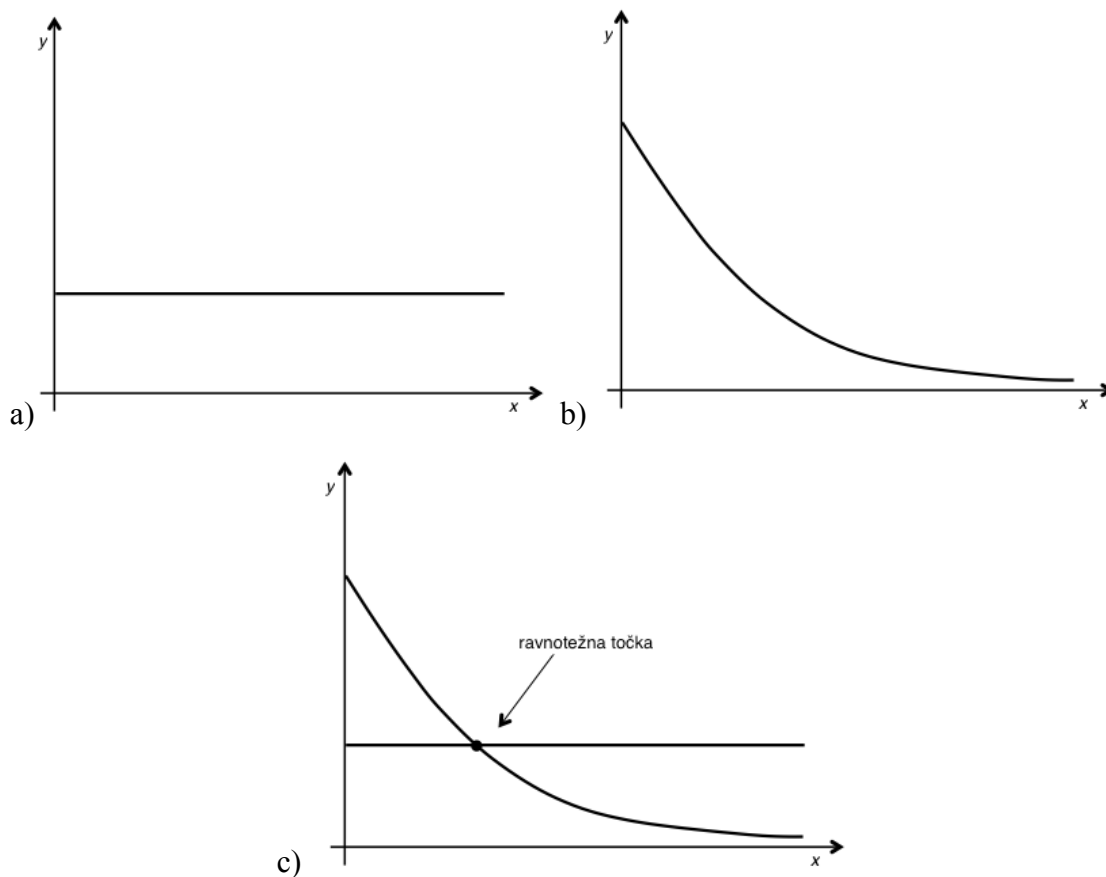
Slika 8. a) Izvor - čvor b) Izvor - fokus

4. Sustav se u nekim slučajevima vraća u ravnotežu, a u nekima se udaljava od nje što ovisi o poremećaju ravnoteže. Ravnotežna točka je **sedlo** (nestabilna ravnotežna točka).¹¹



Slika 9. Sedlo

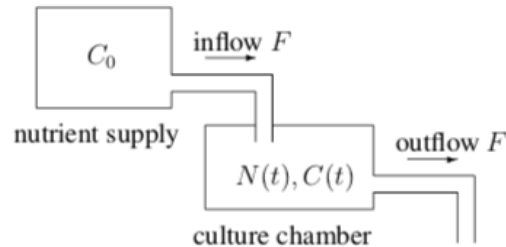
Krivulja s jednadžbom $\frac{dx}{dt} = 0$ naziva se **x-nulklina**, a krivulja s jednadžbom $\frac{dy}{dt} = 0$ je **y-nulklina**. Dvije nulkline sijeku se u ravnotežnoj točki¹² (slika 10.c).



Slika 10. a) Primjer x-nulklina b) Primjer y-nulklina c) Ravnotežna točka u sjecištu x- i y-nulklina

2.3.2 Dinamika kemostata

2.3.2.1 Izvođenje matematičkog modela



Slika 11. Dotok nutrijenta u komoru i istjecanje otopine.¹³

Na slici 4. označeni su: koncentracija hranjivih tvari u spremniku, C_0 (g/m^3), koji će se u daljnjem tekstu označavati kao C_{spr} , vrijeme t (h), stalni dotok u komoru (inflow) i iz komore u ispusnu posudu (outflow), F (m^3/h), koncentracija mikroorganizama u vremenu t , $N(t)$ (g/m^3), koncentracija hranjivih tvari u vremenu t , $C(t)$ (g/m^3).

U komori se održava konstantni volumen, V (m^3) tako da je dotok hranjiva u komoru jednak istjecanju otopine iz nje (F) u jedinici vremena. U rasponu od t do $t + \Delta t$ koncentracija mikroorganizama u komori približno je $N(t)$, a koncentracija hranjivih tvari $C(t)$ pa u malom intervalu Δt iz komore istječe približno $N(t)F\Delta t$ jedinica mase mikroorganizama i $C(t)F\Delta t$ jedinica mase supstrata.

U malom vremenskom intervalu duljine Δt količina novonastalih stanica u komori približno je proporcionalna duljini intervala i količini stanica u komori u vremenu t ($N(t)V$). $K(C(t))$ je koeficijent proporcionalnosti (vitalni koeficijent) ovisan o koncentraciji hranjivih tvari. Količina novonastalih stanica približno je $K(C(t))N(t)V\Delta t$. Prema tome, prirast količine mikroorganizama NV u malom intervalu od t do $t + \Delta t$ je:

$$N(t + \Delta t)V - N(t)V \approx K(C(t))N(t)V\Delta t - N(t)F\Delta t \quad (3)$$

Pozitivni dio znači novonastale mikroorganizme u komori, a negativni mikroorganizme koji su uklonjeni ispuštanjem iz komore.

U malom vremenskom intervalu duljine Δt za stvaranje novih stanica utroši se količina hranjiva približno proporcionalna količini novonastalih stanica i duljini intervala. Koeficijent proporcionalnosti označava se s α (u vezi je s iskorištenjem nutrijenta pri stvaranju biomase). U

malom vremenskom intervalu Δt u komoru ulazi $C_{spr}F\Delta t$ supstrata, a iz spremnika istječe $F\Delta t$ jedinica supstrata. Prema tome, prirast količine supstrata CV u intervalu duljine Δt je:

$$C(t + \Delta t)V - C(t)V \approx -\alpha K(C(t))N(t)V\Delta t + C_{spr}F\Delta t - C(t)F\Delta t \quad (4)$$

Prvi član označava supstrat utrošen na stvaranje novih stanica, drugi stalni dotok iz spremnika, a treći istjecanje iz komore. Dijeljenje jednadžbi s $V\Delta t$ daje:

$$\begin{aligned} \frac{\Delta N(t)}{\Delta t} &\approx K(C(t))N(t) - (F/V)N(t) \\ \frac{\Delta C(t)}{\Delta t} &\approx -\alpha K(C(t))N(t) - (F/V)C_{spr} - (F/V)C(t) \end{aligned} \quad (5)$$

Dinamiku kemostata prema tome može opisati sustav diferencijalnih jednadžbi:

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= K(C)N - DN \\ \frac{dC}{dt} &= -\alpha K(C)N - DC + DC_{spr} \end{aligned} \quad (6)$$

Koeficijent razrjeđenja (D), jednak F/V , ima jedinice $1/t$, kao i $K(C)$, dok je α bezdimenzijska konstanta.¹²

2.3.2.2 Koeficijent $K(C)$

Koeficijent $K(C)$ raste s povećanjem koncentracije supstrata, C , približavajući se graničnoj vrijednosti K_{maks} . Prema Monodovoj kinetici rasta vrijedi:

$$\begin{aligned} \lim_{C \rightarrow \infty} K(C) &= \lim_{C \rightarrow \infty} \frac{K_{maks}}{\frac{K_m}{C} + 1} = K_{maks} \\ K(C) &= \frac{K_{maks}C}{K_m + C} \end{aligned} \quad (7)$$

Konstanta poluzasićenja, K_m , definira se kao vrijednost koncentracije supstrata C pri kojoj je $K(C)$ jednak polovini svoje maksimalne vrijednosti ($K(K_m) = \frac{K_{maks}}{2}$) pa se sustav (6) prevodi u (8).

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= \frac{K_{maks}C}{K_m + C}N - DN \\ \frac{dC}{dt} &= -\alpha \frac{K_{maks}C}{K_m + C}N - DC + DC_{spr} \end{aligned} \quad (8)$$

C_{spr} i D ovise samo o svojstvima kemostata, a K_m , K_{maks} i α ovise o kemostatu, mikroorganizmima i supstratu te se određuju eksperimentalno. Jednadžba koja povezuje veličine $K(C)$, K_m , K_{maks} i C je:

$$\frac{1}{K(C)} = \frac{K_m + C}{K_{maks} C} = \frac{K_m}{K_{maks}} \frac{1}{C} + \frac{1}{K_{maks}} \quad (9)$$

Sređivanjem (9) dobije se (10).

$$\left(\frac{1}{K(C)}\right) = \frac{K_m}{K_{maks}} \left(\frac{1}{C}\right) + \frac{1}{K_{maks}} \quad (10)$$

Jednadžba (10) zapravo je jednadžba pravca pa se eksperimentalnim određivanjem vitalnih koeficijenata za različite vrijednosti koncentracije regresijskom analizom mogu izračunati K_m i K_{maks} .¹²

2.3.2.3 Rubni slučajevi

U realnom kemostatu varijable i parametri moraju biti veći ili jednaki nuli. U rubnim su slučajevima neki parametri ili varijable jednaki nuli (izuzetak je vremenska varijabla). Moguća su tri slučaja:

1. Slučaj sustava bez protoka kroz komoru, kad je $D = 0$ pa je i $F = 0$ (jer je $D = F/V$) zapravo predstavlja klasičnu komoru pa vrijedi:

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= \frac{K_{maks} C}{K_m + C} \\ \frac{dC}{dt} &= -\alpha \frac{K_{maks} C}{K_m + C} N \end{aligned} \quad (11)$$

Nakon sređivanja dobije se:

$$\alpha \frac{dN}{dt} + \frac{dC}{dt} = 0 \quad (12)$$

$\alpha N(t) + C(t) = k$ za sve t , $k = \alpha N(0) + C(0)$, a ponovnim sređivanjem dobije se $C = k - \alpha N$ pa slijedi:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{K_{maks}(k - \alpha N)}{K_m + k - \alpha N} N \quad (13)$$

2. Ako je $C_{spp} = 0$, a $D > 0$, otopina u komori koja sadrži supstrat i mikroorganizme postupno se razrjeđuje dotokom vode iz spremnika. Mikroorganizmi rastu dok još ima tragova supstrata, a u konačnici i supstrat i mikroorganizmi nestaju iz komore pa je:

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= \frac{K_{maks} C}{K_m + C} N - DN \\ \frac{dC}{dt} &= -\alpha \frac{K_{maks} C}{K_m + C} N - DC \end{aligned} \quad (14)$$

3. U slučaju kad je $K_{maks} = 0$ onda je i $K(C) = 0$. Sustav postaje:

$$\begin{aligned}\frac{dN}{dt} &= -DN \\ \frac{dC}{dt} &= -DC + DC_0\end{aligned}\tag{15}$$

Nema rasta mikroorganizama tako da u konačnici nestaju iz komore.¹²

3. PREGLEDNI DIO

Dinamika kemostata opisana je prije spomenutim sustavom diferencijalnih jednadžbi:

$$\begin{aligned}\frac{dN}{dt} &= \frac{K_{maks}C}{K_m + C}N - DN \\ \frac{dC}{dt} &= -\alpha \frac{K_{maks}C}{K_m + C}N + D(C_{spr} - C)\end{aligned}\quad (8)$$

koji sadrži varijable vrijeme, t (h), koncentracija mikroorganizama, N (g/m^3) i koncentraciju hranjivih tvari, C (g/m^3) te parametre koeficijent razrijeđenja, D (h^{-1}), koeficijent iskorištenja nutrijenta, α (bezdimenzijski), koncentraciju nutrijenta u spremniku, C_{spr} (g/m^3), maksimalni vitalni (reproduktivni) koeficijent, K_{maks} (h^{-1}), konstantu poluzasićenja, K_m (g/m^3). Potrebno je definirati i početne uvjete za koncentraciju mikroorganizama, N_0 , i koncentraciju hranjivih tvari, C_0 .

Prva jednadžba opisuje promjenu koncentracije mikroorganizama s vremenom, a druga promjenu koncentracije hranjivih tvari s vremenom. Da bi proces išao prema ravnotežnom stanju (kemostaza), a da se ravnotežna koncentracija hranjiva i bakterija (\bar{N} , \bar{C}) više ne bi mijenjala bez obzira na početne uvjete moraju biti zadovoljene dvije nejednakosti:

1. Ako je zadovoljen uvjet $K_{max} > D$ postoji relacija $\bar{C} = \frac{DK_m}{K_{maks} - D}$, a \bar{C} ne ovisi o C_{spr} i α .
2. Ako je zadovoljen uvjet $C_{spr} > \bar{C} = \frac{DK_m}{K_{maks} - D}$ postoji $\bar{N} = \frac{C_{spr} - C}{\alpha} = \frac{C_{spr} - \frac{DK_m}{K_{maks} - D}}{\alpha}$.

Ako su zadovoljena oba uvjeta, fiksna točka (\bar{N} , \bar{C}) je netrivialna i može se odrediti računski iz navedenih formula (koje se dobiju rješavanjem sustava $dN/dt = 0$ i $dC/dt = 0$). Trivialna fiksna točka bila bi $(0, C_{spr})$ što bi značilo da u sustavu nema mikroorganizama.

Tablica 1. prikazuje rezultate dobivene uvrštavanjem vrijednosti parametara u formule iz uvjeta 1 i 2 za različite vrijednosti parametra α uz fiksne parametre $K_{max} = 2,5$, $K_m = 0,5$, $D = 1,5$, $C_{spr} = 1$.

Tablica 1. Ravnotežne koncentracije mikroorganizama (\bar{N}) i hranjivih tvari (\bar{C}) izračunate pomoću formula iz uvjeta 1 i 2 za odabrane vrijednosti parametra α

α	\bar{N}	\bar{C}
0,10	2,5	0,75
0,05	5,0	0,75
0,02	12,5	0,75

Nulcline se dobiju rješavanjem sustava (8) za $\frac{dN}{dt} = 0$ i $\frac{dC}{dt} = 0$. Za prvu jednadžbu dobije se:

$$\left(\frac{K_{maks}C}{K_m + C} - D\right)N = 0$$

Rješenje je $N = 0$ ili $C = \frac{DK_m}{K_{maks} - D}$.

Za drugu jednadžbu dobije se:

$$C\left(\frac{\alpha K_{maks}C}{K_m + C}N - D\right) = DC_{spr}$$

4. REZULTATI

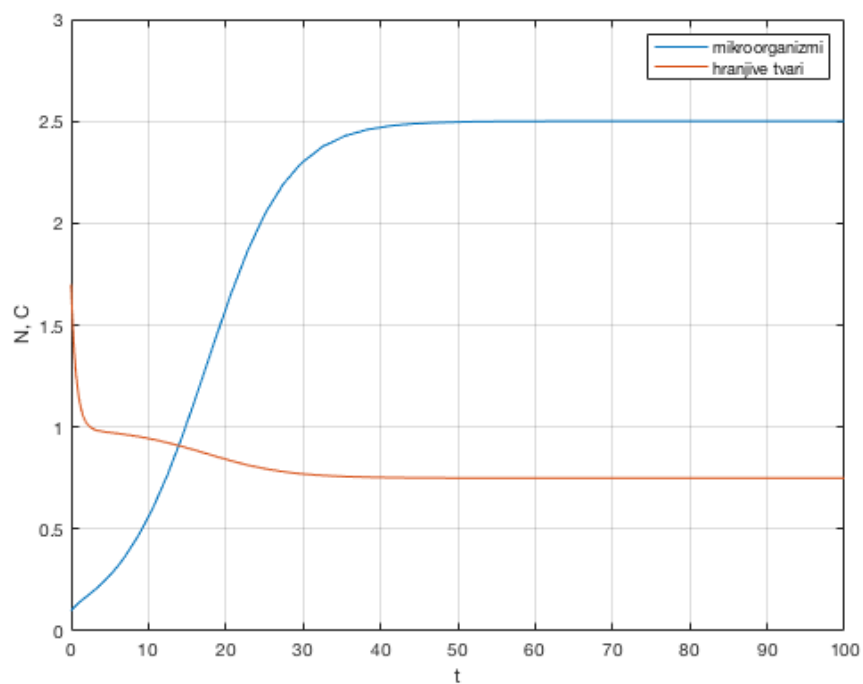
U ovom radu ispitan je utjecaj početnih uvjeta (N_0 i C_0) uz fiksne parametre K_m , K_{maks} , D i C_{spr} (prikazani u tablici 2.) i tri vrijednosti za parametar α (0,1, 0,05 i 0,02) pomoću modela razvijenog u programskom paketu MATLAB. Rezultati su prikazani slikama 12-38 i tablicama 3-5.

Tablica 2. Fiksni parametri

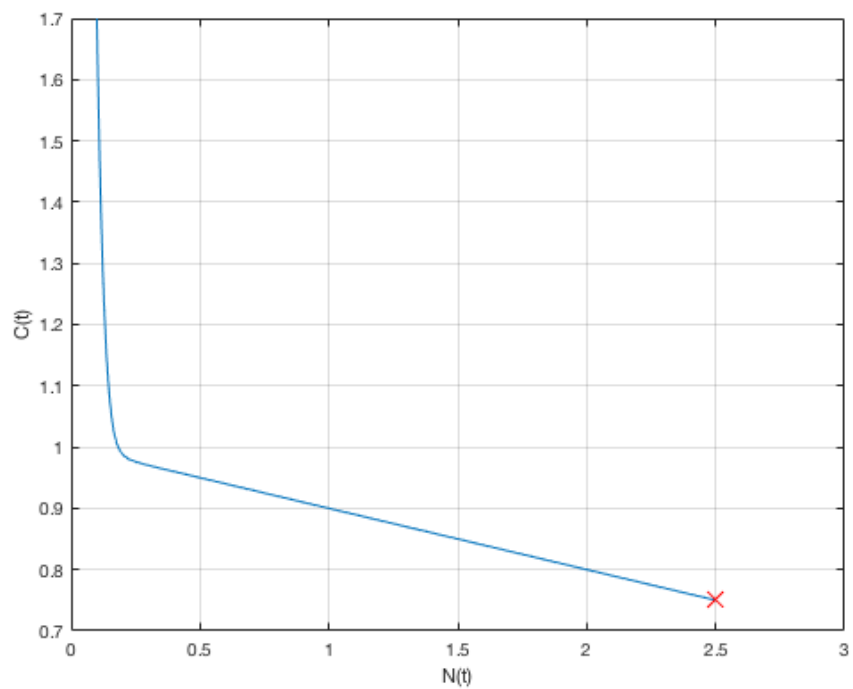
Parametar	Vrijednost	Mjerna jedinica
K_{max}	2,5	h^{-1}
K_m	0,5	g/m^3
D	1,5	h^{-1}
C_{spr}	1	g/m^3

Tablica 3. Vrijednosti koncentracija za interval od $t = 0$ do $t = 100$ za odabrane početne uvjete ($t = 0$) uz $\alpha = 0,1$

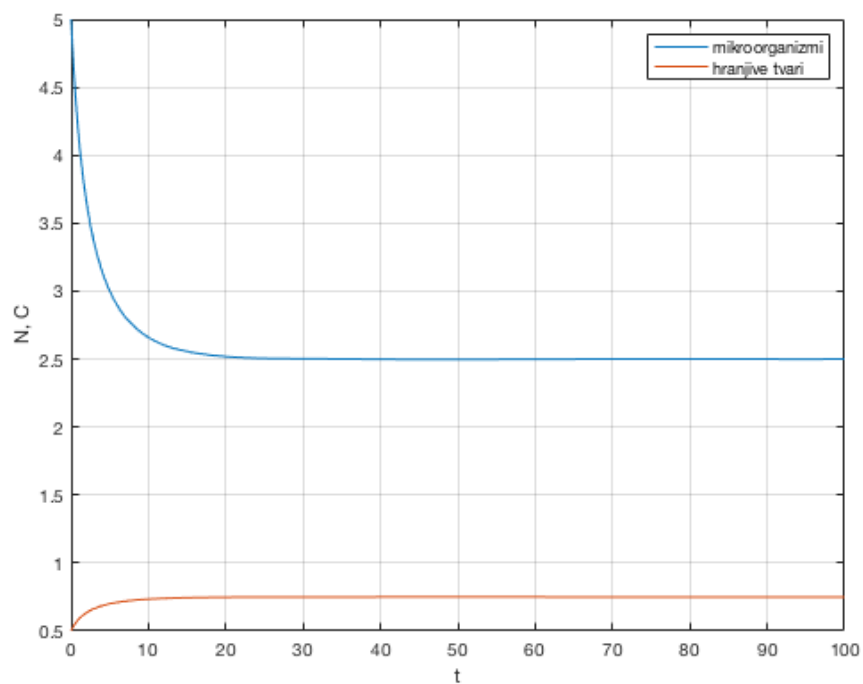
t	1.		2.		3.		4.	
	N	C	N	C	N	C	N	C
0	0,1	1,7	5	0,5	1	0,2	3	2
10	0,55816	0,94423	2,6587	0,73413	1,715	0,82849	2,7044	0,72957
20	1,5814	0,84186	2,5183	0,74817	2,3429	0,76571	2,5261	0,74739
30	2,3031	0,76969	2,5023	0,74977	2,478	0,7522	2,5036	0,74964
40	2,4707	0,75293	2,4989	0,75011	2,4994	0,75006	2,5004	0,74996
50	2,4964	0,75036	2,4974	0,75026	2,5022	0,74978	2,4998	0,75002
60	2,4998	0,75002	2,4991	0,75009	2,5018	0,74982	2,4999	0,75001
70	2,5	0,75	2,5004	0,74996	2,4993	0,75007	2,5001	0,74999
80	2,5	0,75	2,5002	0,74998	2,4981	0,75019	2,5001	0,74999
90	2,5	0,75	2,4999	0,75001	2,4985	0,75015	2,5	0,75
100	2,5	0,75	2,5	0,75	2,4999	0,75001	2,5	0,75



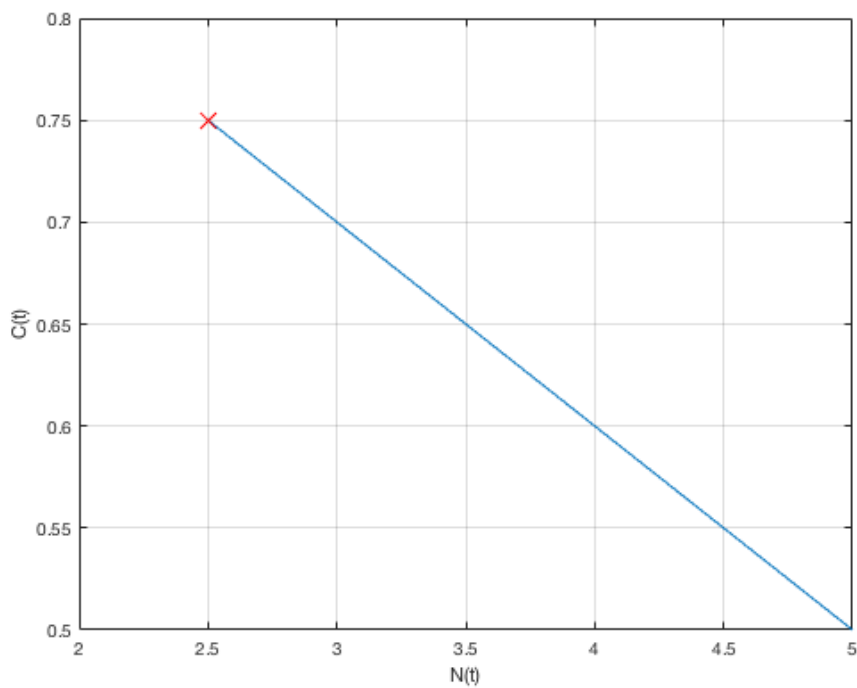
Slika 12. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 0,1$, $C_0 = 1,7$



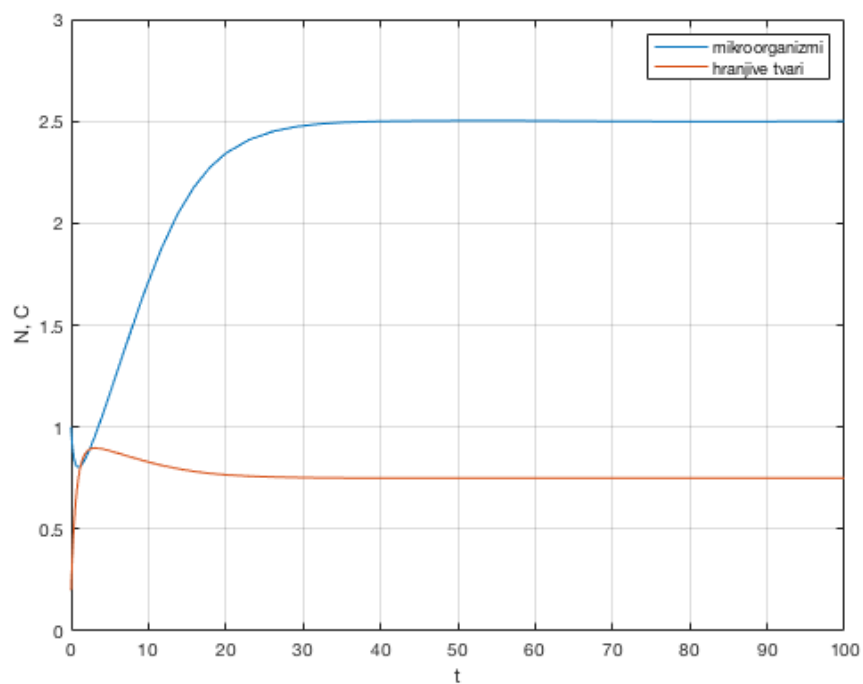
Slika 13. Trajektorija za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 0,1$, $C_0 = 1,7$, Fiksna točka označena je s \times .



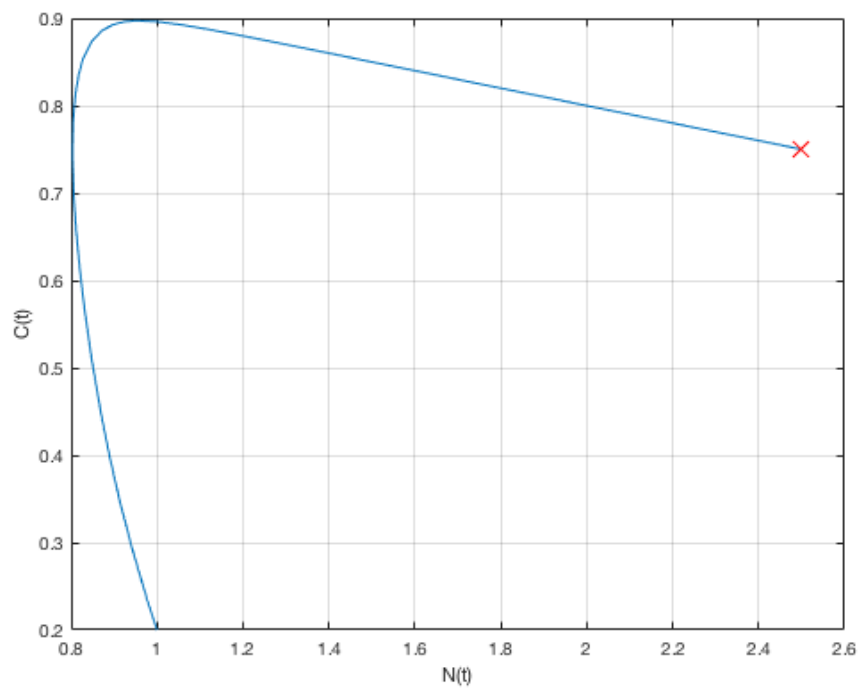
Slika 14. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 5$, $C_0 = 0,5$



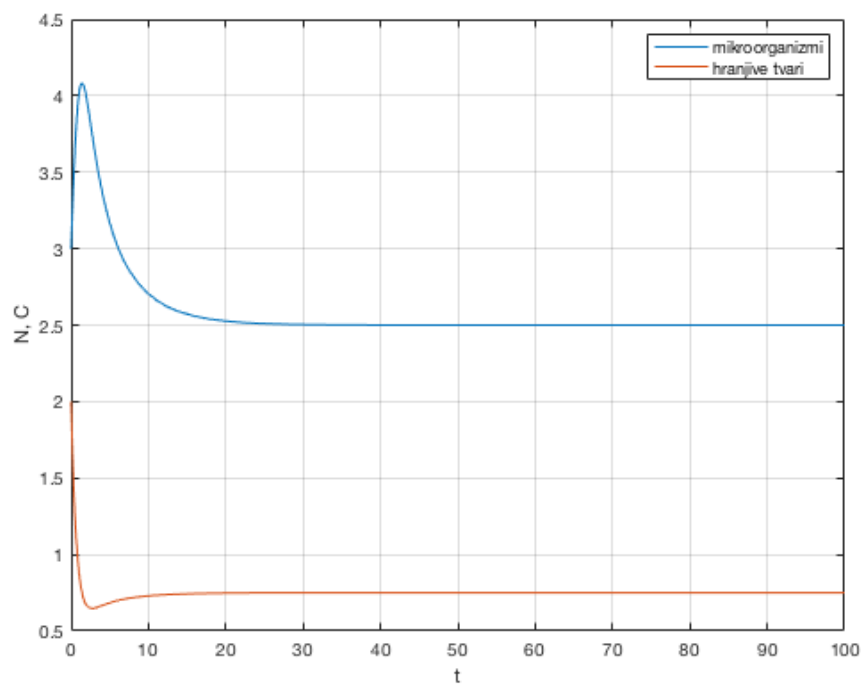
Slika 15. Trajektorija za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 5$, $C_0 = 0,5$, Fiksna točka označena je s \times .



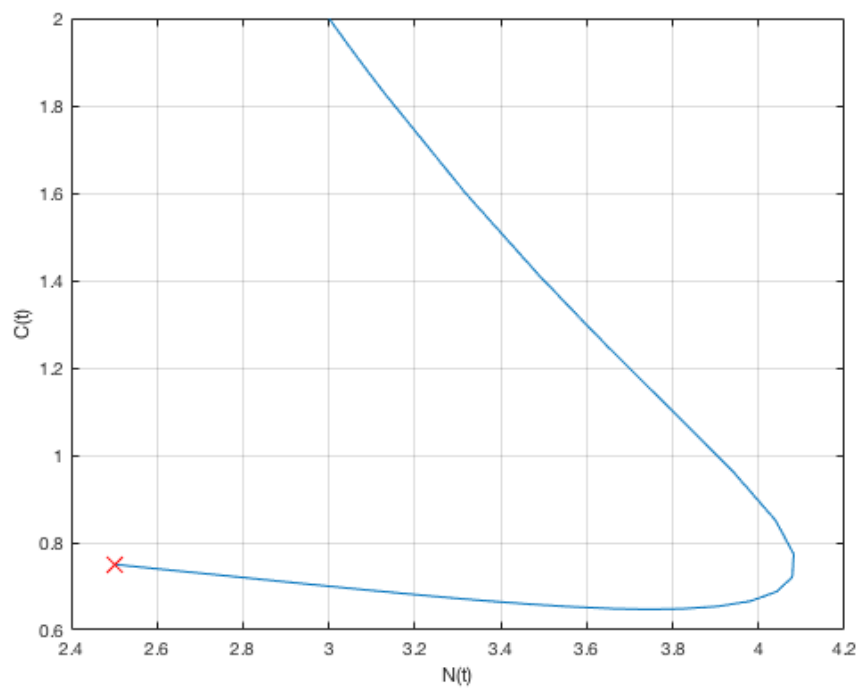
Slika 16. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 1$, $C_0 = 0,2$



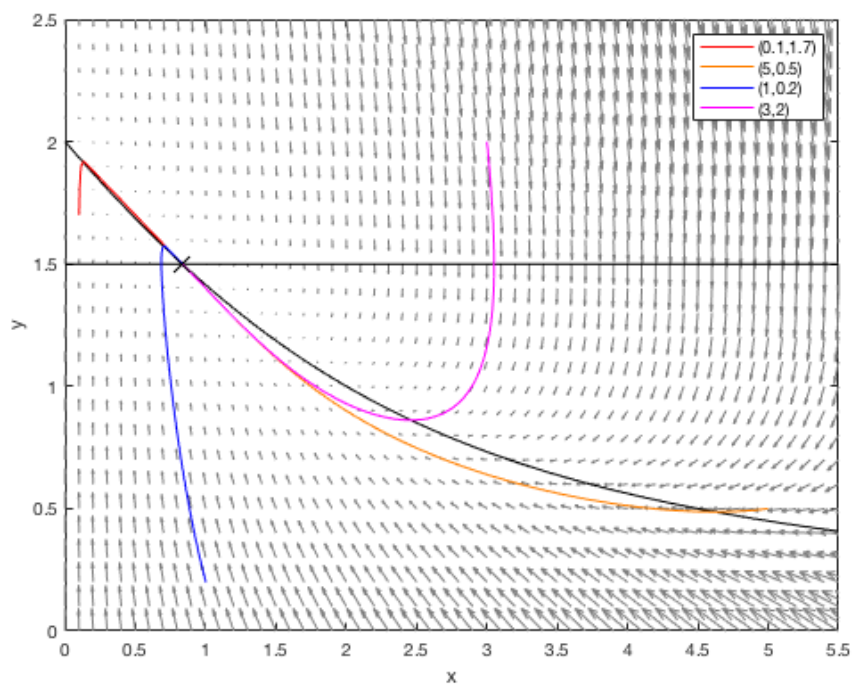
Slika 17. Trajektorija za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 1$, $C_0 = 0,2$, Fiksna točka označena je s \times .



Slika 18. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 3$, $C_0 = 2$



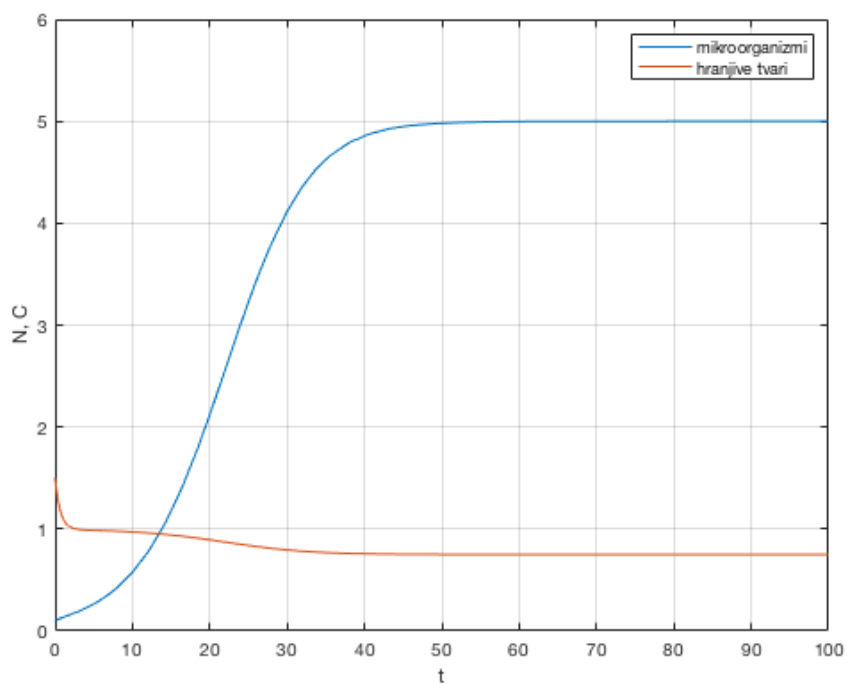
Slika 19. Trajektorija za $\alpha = 0,1$ uz početne uvjete $N_0 = 3$, $C_0 = 2$. Fiksna točka označena je s \times .



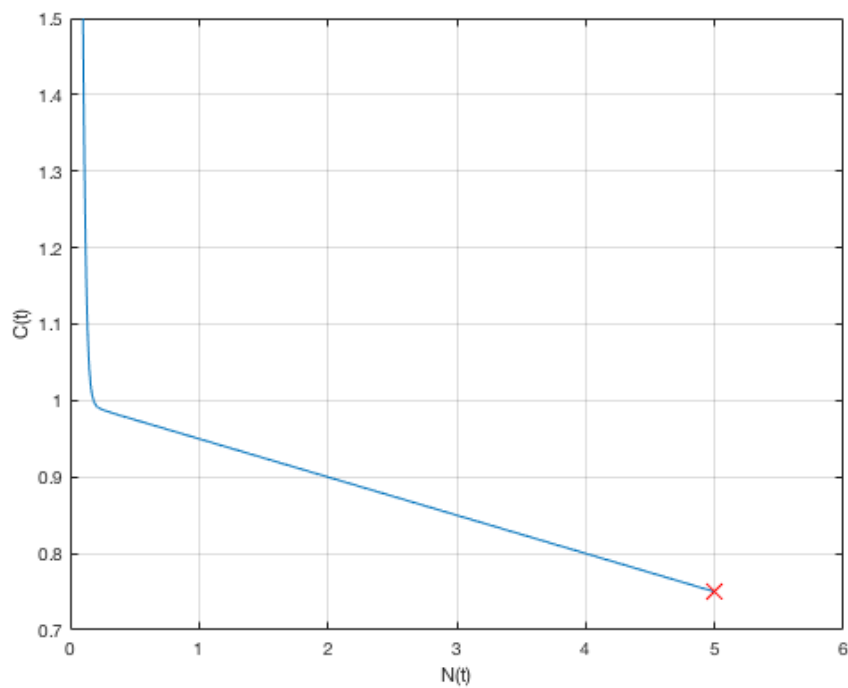
Slika 20. Grafički prikaz četiri trajektorije za $\alpha = 0,1$ uz odabrane početne uvjete (označene u legendi). Fiksna točka označena je s \times .

Tablica 4. Vrijednosti koncentracija za interval od $t = 0$ do $t = 100$ za odabrane početne uvjete ($t = 0$) uz $\alpha = 0,05$

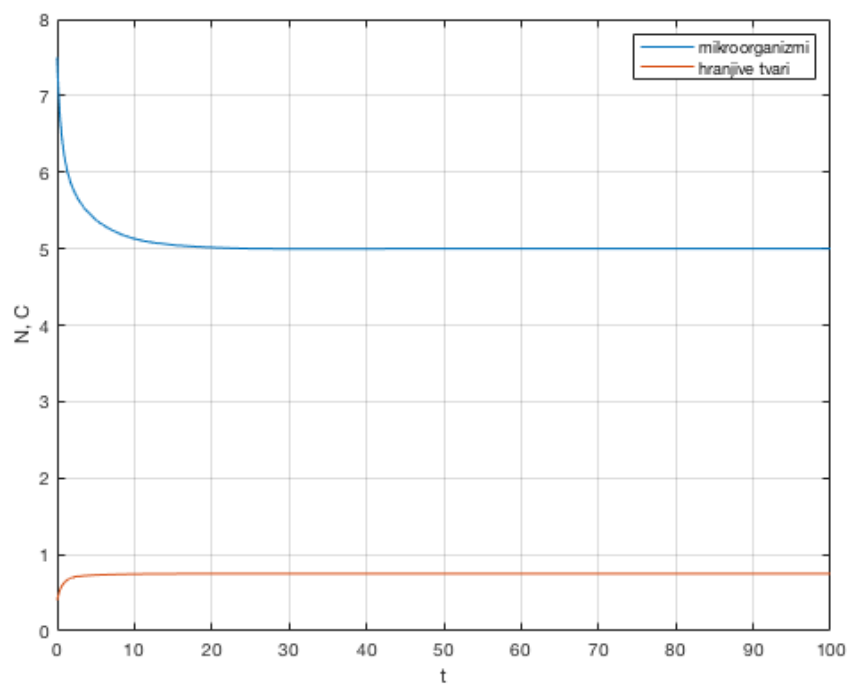
t	1.		2.		3.		4.	
	N	C	N	C	N	C	N	C
0	0,1	1,5	7,5	0,4	0,5	0,2	6	1,7
10	0,57482	0,97127	5,1299	0,74351	1,3959	0,9302	5,362	0,73191
20	2,1197	0,89401	5,0151	0,74924	3,5071	0,82465	5,0509	0,74745
30	4,1134	0,79433	4,9975	0,75012	4,7199	0,76401	5,006	0,7497
40	4,8581	0,7571	4,9979	0,7501	4,9544	0,75228	5	0,75
50	4,9808	0,75096	4,9999	0,75	4,9935	0,75033	5,0002	0,74999
60	4,9972	0,75014	5,0002	0,74999	4,9991	0,75005	5,0002	0,74999
70	4,9991	0,75005	5,0001	0,75	5,0003	0,74999	5	0,75
80	4,9997	0,75001	5	0,75	5,0013	0,74993	5	0,75
90	5,0001	0,74999	5	0,75	5,0008	0,74996	5	0,75
100	5	0,75	5	0,75	4,9997	0,75001	5	0,75



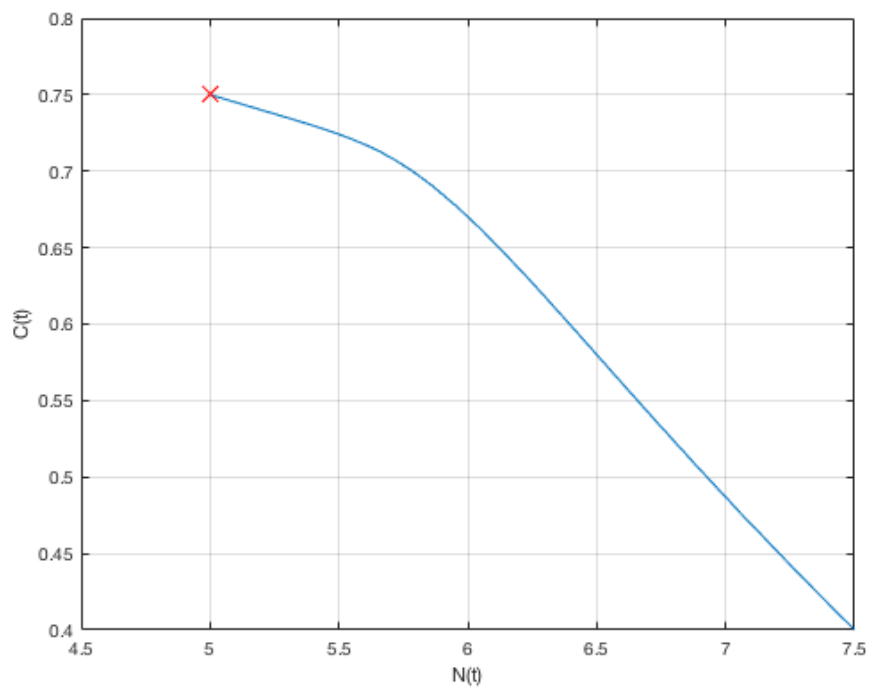
Slika 21. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 0,1$, $C_0 = 1,5$



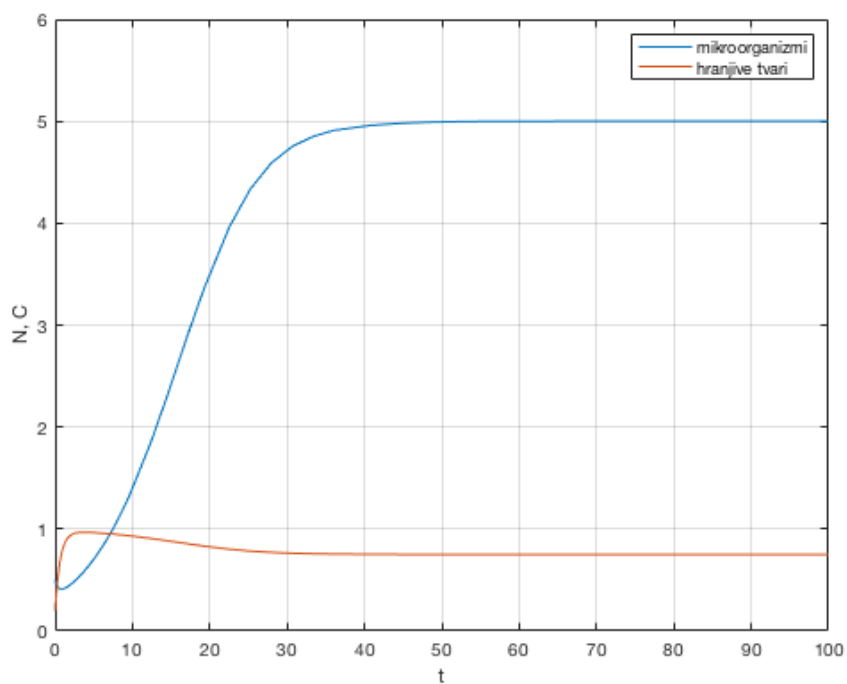
Slika 22. Trajektorija za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 0,1$, $C_0 = 1,5$. Fiksna točka označena je s \times .



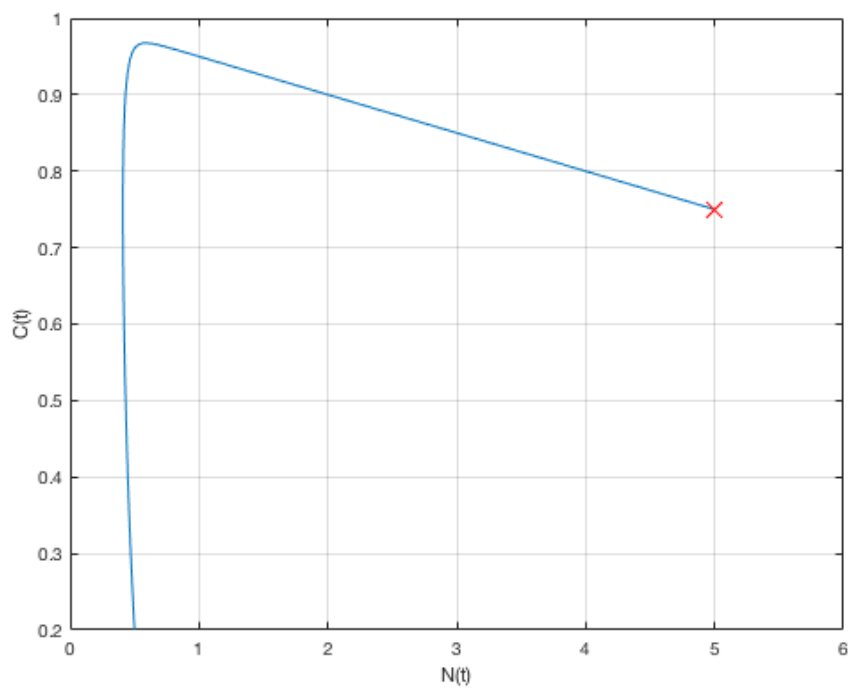
Slika 23. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 7,5$, $C_0 = 0,4$



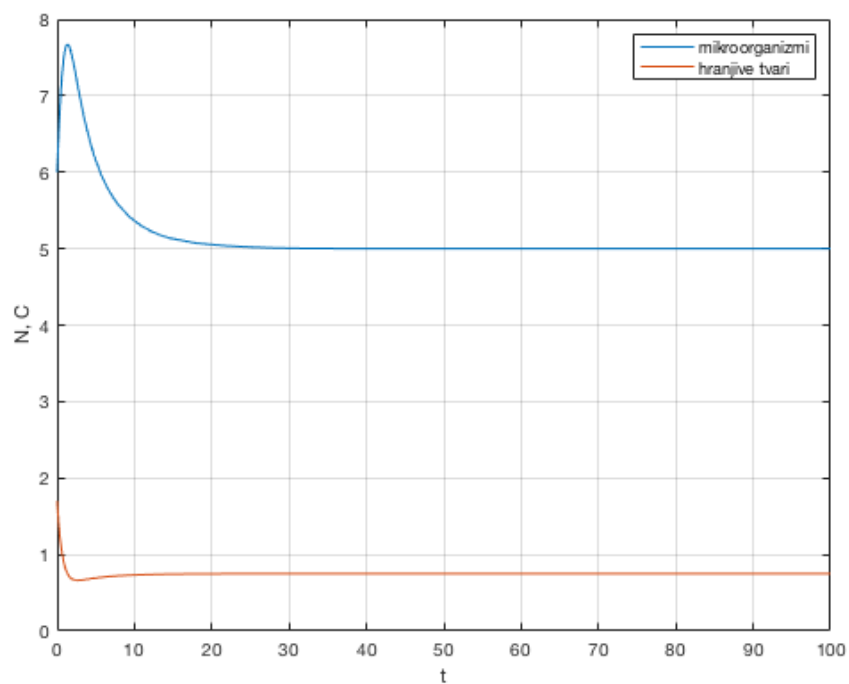
Slika 24. Trajektorija za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 7,5$, $C_0 = 0,4$. Fiksna točka označena je s \times .



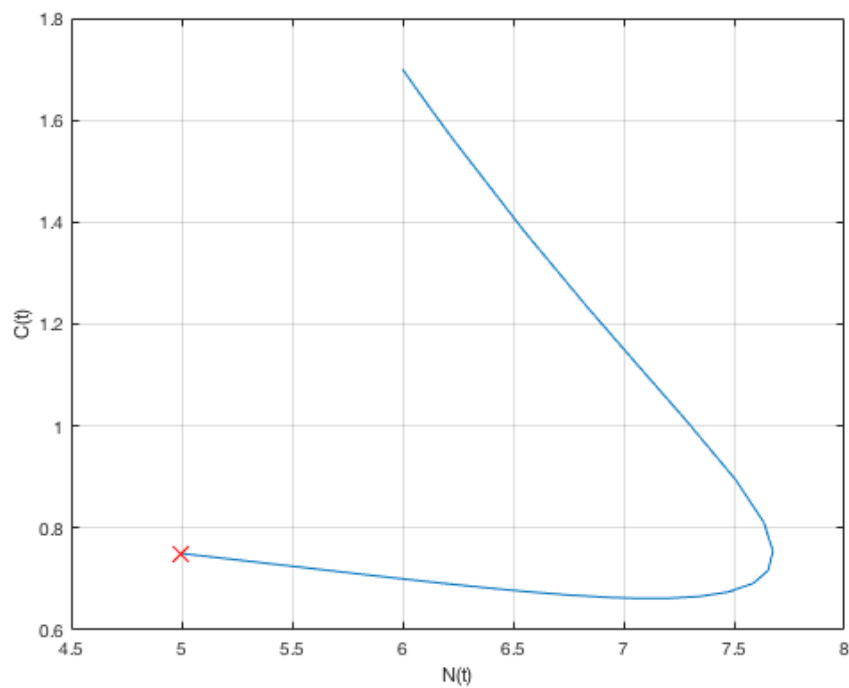
Slika 25. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 0,5$, $C_0 = 0,2$



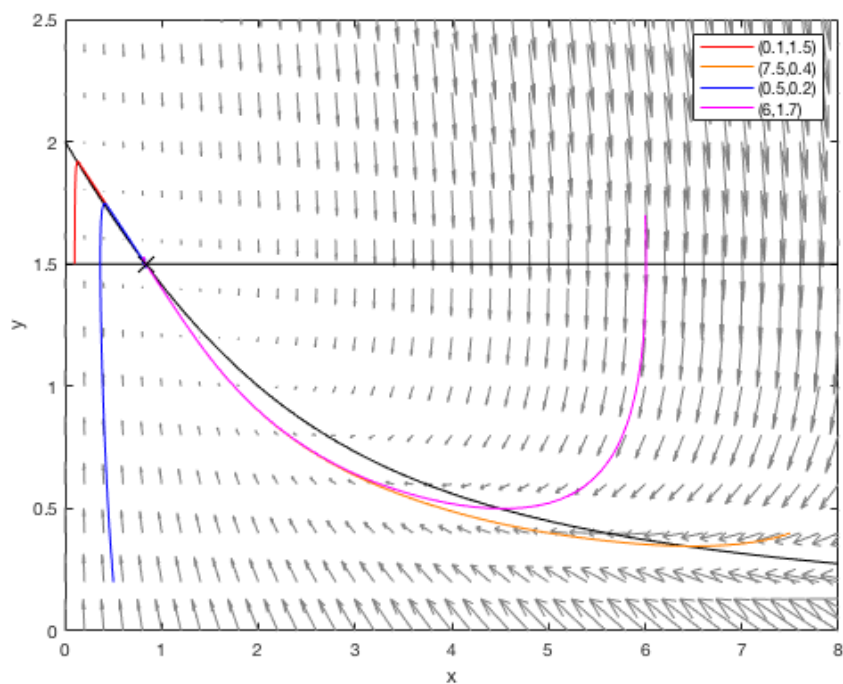
Slika 26. Trajektorija za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 0,5$, $C_0 = 0,2$. Fiksna točka označena je s \times .



Slika 27. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 6$, $C_0 = 1,7$



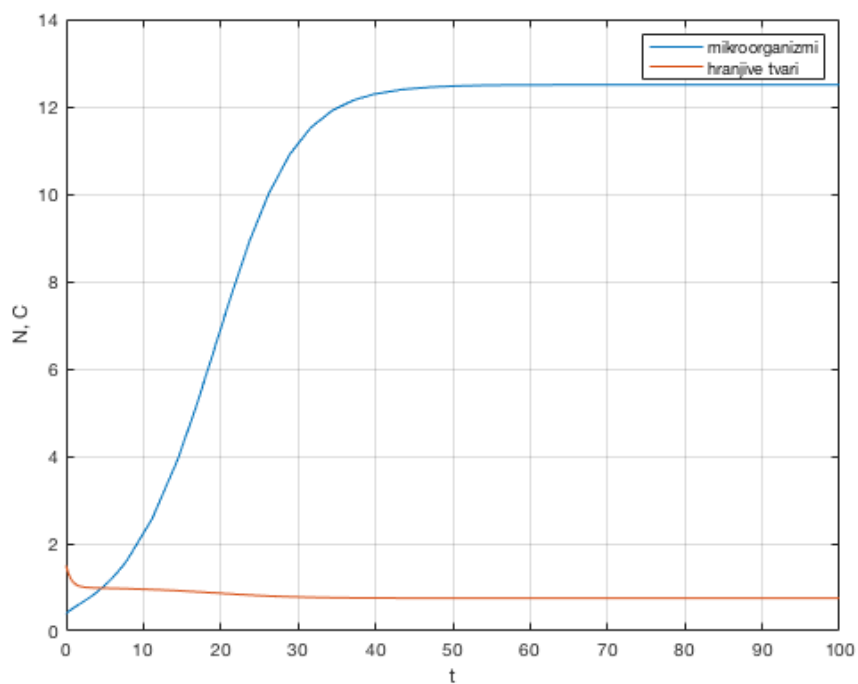
Slika 28. Trajektorija za $\alpha = 0,05$ uz početne uvjete $N_0 = 6$, $C_0 = 1,7$. Fiksna točka označena je s \times .



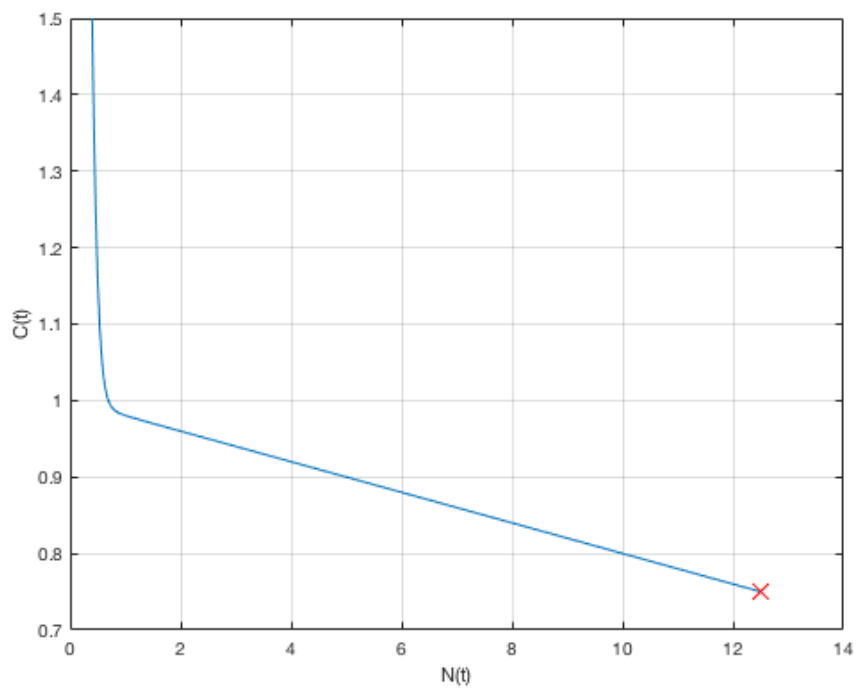
Slika 29. Grafički prikaz četiri trajektorije za $\alpha = 0,05$ uz odabrane početne uvjete (označene u legendi). Fiksna točka označena je s \times .

Tablica 5. Vrijednosti koncentracija za interval od $t = 0$ do $t = 100$ za odabrane početne uvjete ($t = 0$) uz $\alpha = 0,02$

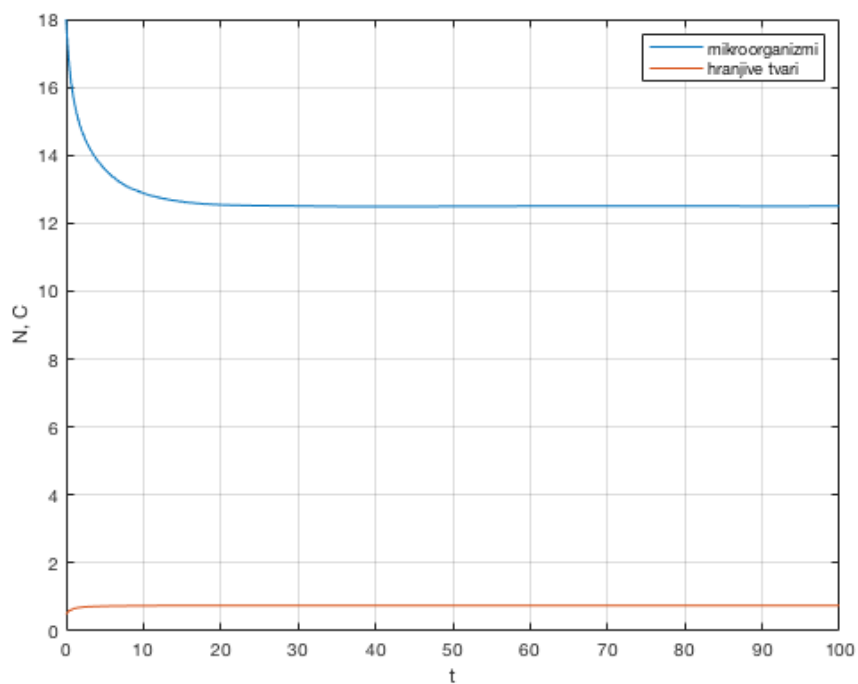
t	1.		2.		3.		4.	
	N	C	N	C	N	C	N	C
0	0,4	1,5	18	0,5	1,5	0,5	14	2
10	2,1963	0,95608	12,874	0,74253	4,6841	0,90631	13,45	0,73101
20	6,9231	0,86153	12,538	0,74923	9,905	0,8019	12,622	0,74756
30	11,184	0,77631	12,505	0,7499	12,055	0,7589	12,517	0,74966
40	12,295	0,75411	12,488	0,75025	12,423	0,75154	12,502	0,74995
50	12,471	0,75057	12,494	0,75011	12,494	0,75011	12,499	0,75002
60	12,497	0,75006	12,501	0,74998	12,499	0,75002	12,499	0,75001
70	12,499	0,75001	12,502	0,74996	12,499	0,75003	12,5	0,75
80	12,502	0,74996	12,5	0,75	12,502	0,74996	12,5	0,74999
90	12,501	0,74998	12,499	0,75001	12,502	0,74996	12,5	0,75
100	12,5	0,75	12,5	0,75	12,5	0,75001	12,5	0,75



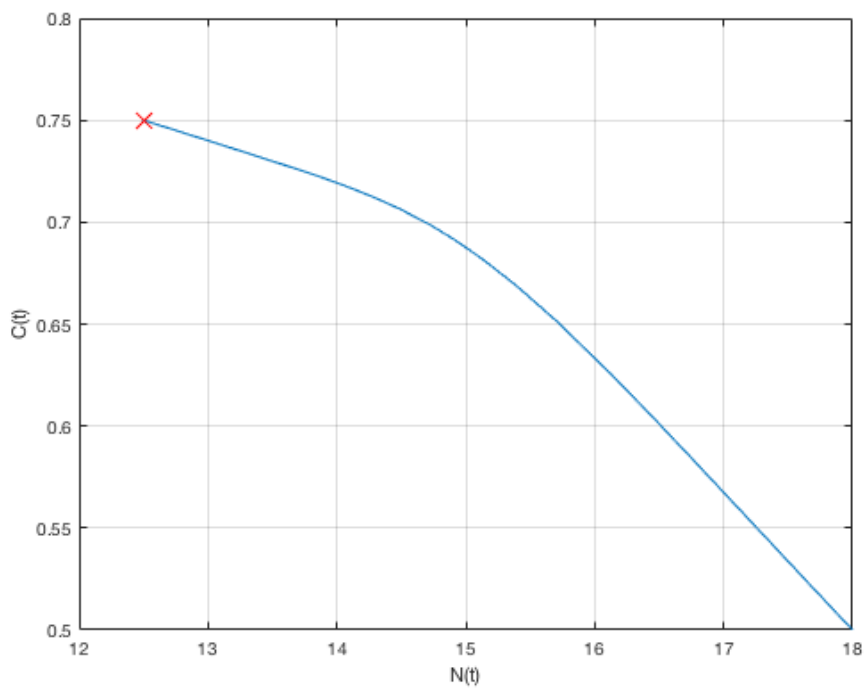
Slika 30. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 0,4$, $C_0 = 1,5$



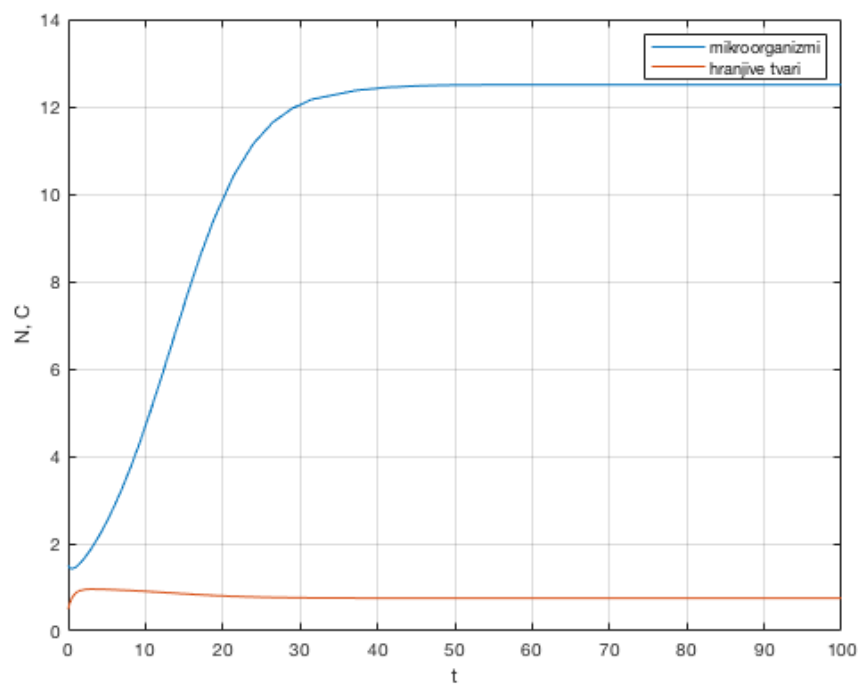
Slika 31. Trajektorija za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 0,4$, $C_0 = 1,5$. Fiksna točka označena je s \times .



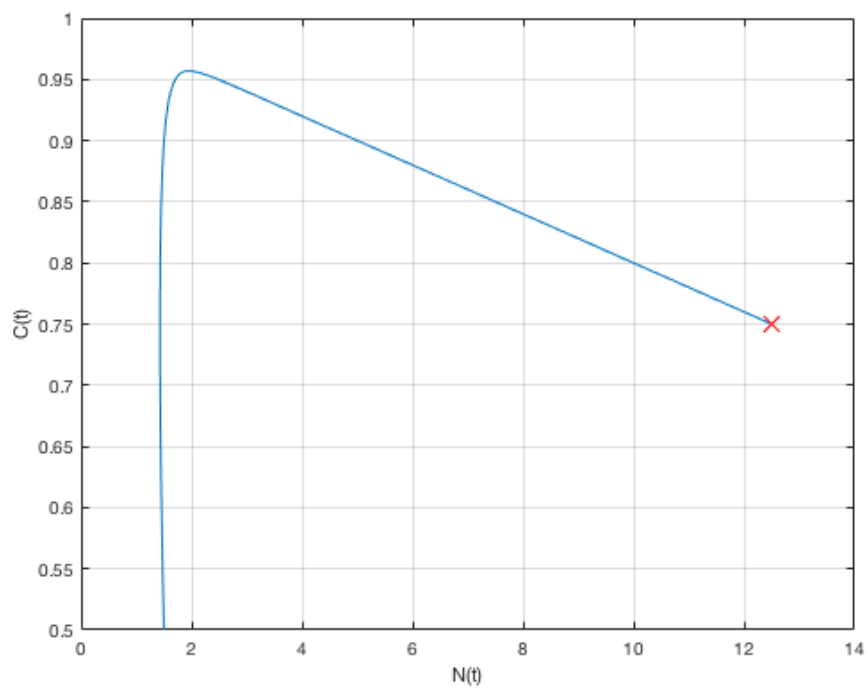
Slika 32. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 18$, $C_0 = 0,5$



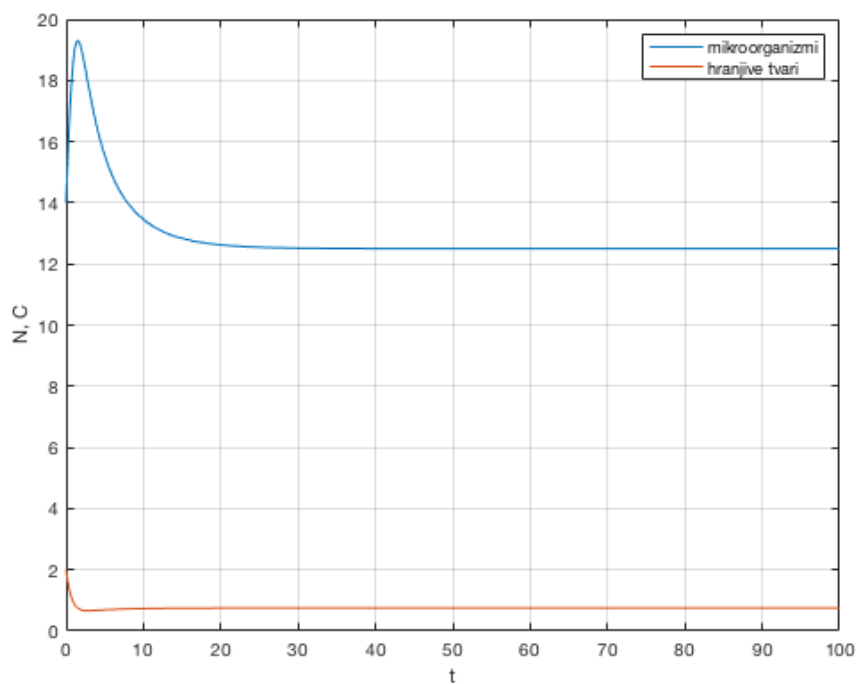
Slika 33. Trajektorija za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 18$, $C_0 = 0,5$. Fiksna točka označena je s \times .



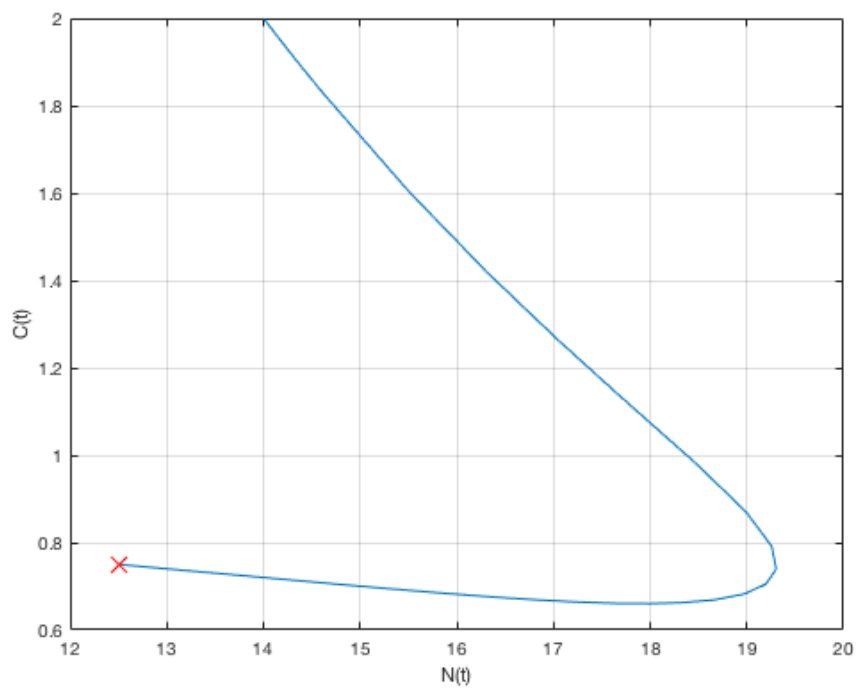
Slika 34. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 1,5$, $C_0 = 0,5$



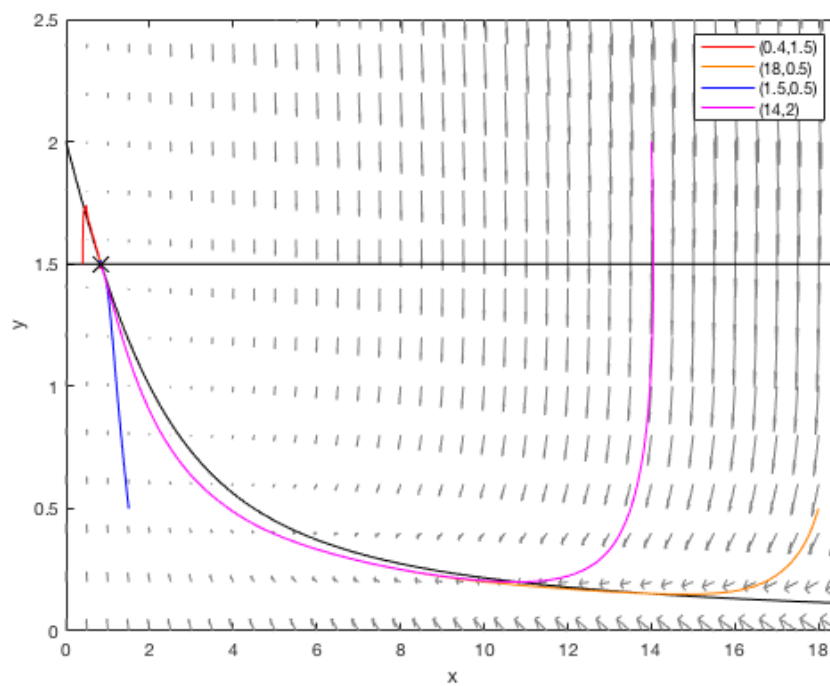
Slika 35. Trajektorija za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 1,5$, $C_0 = 0,5$. Fiksna točka označena je s \times .



Slika 36. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 14$, $C_0 = 2$



Slika 37. Trajektorija za $\alpha = 0,02$ uz početne uvjete $N_0 = 14$, $C_0 = 2$. Fiksna točka označena je s \times .



Slika 38. Grafički prikaz četiri trajektorije za $\alpha = 0,02$ uz odabrane početne uvjete (označene u legendi). Fiksna točka označena je s \times .

5. RASPRAVA

Grafovi ovisnosti koncentracije mikroorganizama i koncentracije hranjivih tvari o vremenu prikazuju promjenu koncentracije mikroorganizama (N) i koncentracije hranjivih tvari (C) u određenom vremenskom intervalu (od $t = 0$ do $t = 100$). Nakon što je postignuto ravnotežno stanje, obje koncentracije postanu konstantne. U grafovima se vidi kako pri ravnotežnom stanju obje koncentracijske krivulje postaju paralelne s vremenskom osi (slike 12, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 27, 30, 32, 34 i 36).

Iz dobivenih tabličnih i grafičkih prikaza može se zaključiti da se za nepromijenjene vrijednosti parametara K_{max} , K_m , D , C_{spr} i α proces stabilizira nakon određenog vremena ovisno o početnim uvjetima.

Kad je početna koncentracija hranjivih tvari veća od koncentracije hranjivih tvari u spremniku ($C_0 > C_{spr}$) dolazi do naglog razrjeđenja (slike 12, 18, 21, 27, 30 i 36). Krivulja u početku brzo pada do postizanja koncentracije spremnika nakon čega slijedi period stabilizacije do ravnotežne koncentracije. U ravnotežnom stanju obje krivulje postaju paralelne s vremenskom osi.

Kad je početna koncentracija mikroorganizama veća od ravnotežne ($N_0 > \bar{N}$) (slike 14, 23 i 32) dolazi do pada krivulje koncentracije mikroorganizama zbog ispiranja. U početku ima previše mikroorganizama, a premalo hranjiva. U komoru utječe čisto hranjivo iz spremnika, a iz nje istječe otopina koja sadrži mikroorganizme (efekt razrjeđenja populacije).

Kad je $N_0 > \bar{N}$ te $C_0 > \bar{C}$ i $C_0 > C_{spr}$ do stabilizacije procesa u sustavu postoji višak mikroorganizama koji troši višak hranjiva. Nakon stabilizacije postiže se ravnoteža.

Slike 16. i 25. prikazuju slučajeve kad je početna koncentracija mikroorganizama prevelika s obzirom na početnu koncentraciju hranjivih tvari zbog čega je najprije vidljiv mali pad koncentracije mikroorganizama, a zatim vrlo brzo počinje rasti. Razlog tomu je povećanje koncentracije hranjivih tvari zbog dotoka iz spremnika. Slika 34. prikazuje sličan slučaj u kojem rast mikroorganizama počinje nakon kratkog vremena potrebnog da se stabilizira proces.

Što je parametar α manji (uz ostale nepromijenjene), manje se troši hranjiva za stvaranje novih bakterija, što rezultira obrnuto proporcionalnim povećanjem koncentracije bakterija pri ravnotežnom stanju. Ako je $\alpha = 0,1$ ravnotežna koncentracija mikroorganizama iznosi $2,5 \text{ g/m}^3$ (slika), za $\alpha = 0,05$ ona je 5 g/m^3 (slika), a za $\alpha = 0,02$ $12,5 \text{ g/m}^3$ (slika). Pritom nema nikakvog

utjecaja na ravnotežnu koncentraciju hranjiva koja u sva tri slučaja iznosi $0,75 \text{ g/m}^3$. Ti rezultati potvrđuju prethodno izračunate vrijednosti (tablica 1.).

Trajektorije za iste vrijednosti parametara, bez obzira na početne uvjete, uvijek počinju u početnoj točki (N_0, C_0), a završavaju u istoj fiksnoj (ravnotežnoj) točki (slike 13, 15, 17, 19, 22, 24, 26, 28, 31, 33, 35 i 37).

Fazni portret bi se dobio prikazivanjem trajektorija za veći broj različitih početnih uvjeta. Iz prikaza na slikama 20, 29 i 38 gdje su prikazane četiri reprezentativne trajektorije s nulklinama u vektorskom polju nazire se i opći karakter stabilnosti dinamičkog sustava.

6. ZAKLJUČAK

Matematički model koji se sastoji od sustava dviju autonomnih diferencijalnih jednadžbi dobro simulira procese u kemostatu pri jednostavnim uvjetima. Pomoću programskog paketa MATLAB R2018a može se relativno lako numerički i grafički rješavati takve dinamičke sustave. Rezultati rada potvrđuju teorijske matematičke pretpostavke o naravi ravnoteže sustava.

7. POPIS SIMBOLA

t	vrijeme, h
N	koncentracija mikroorganizama, g/m^3
C	koncentracija hranjivih tvari, g/m^3
D	koeficijent razrijeđenja, h^{-1}
α	koeficijent iskorištenja hranjivih tvari (bezdimenzijski)
C_{spr}	koncentracija hranjivih tvari u spremniku, g/m^3
$K(C)$	vitalni koeficijent
K_{maks}	maksimalna brzina rasta, h^{-1}
K_m	konstanta poluzasićenja, g/m^3
N_0	početna koncentracija mikroorganizama, g/m^3
C_0	početna koncentracija hranjivih tvari, g/m^3
\bar{N}	ravnotežna koncentracija mikroorganizama, g/m^3
\bar{C}	ravnotežna koncentracija hranjivih tvari, g/m^3
$\frac{dN}{dt}$	brzina promjene koncentracije mikroorganizama, $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$
$\frac{dC}{dt}$	brzina promjene koncentracije hranjivih tvari, $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$

8. LITERATURA

1. Harmand, J., Lobry, C., Rapaport, A., Sari, T., *The Chemostat: Mathematical Theory of Microorganism Cultures*, Vol. 1, Wiley (2017) 1-23.
2. Fogler, H. S., *Elements of chemical reaction engineering*, 4th Edn, Prentice Hall, Boston (2005) 418-439.
3. Monod J., The Growth of Bacterial Cultures, *Ann. Rev. Microb.* **3** (1949) 371-394.
4. Monod J., La technique de culture continue: Théorie et applications, *Ann. Inst. Pasteur* **79** (1950) 390–410.
5. Novick A., Szilard L., Description of the Chemostat". *Science* **112** (1950): 715-716.
6. Novick A., Szilard L., Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **36** (1950) 708–719.
7. Kuenen, J. G., Johnson, O. J., Continuous Cultures (Chemostats), u: *Desk Encyclopedia of Microbiology*, 2nd Edn, M. Schaechter, Ed., Oxford, Elsevier, (2009) 309-326.
8. Cohen, G., *Microbial Biochemistry*, 2nd Edn, Springer, New York (2011) 1-10.
9. http://matematika.fkit.hr/novo/izborni/predavanja/Dvodimenzionalni_problem.pdf (pristup 10. rujna 2018.)
10. http://matematika.fkit.hr/novo/izborni/predavanja/Lekcija_1_skica.pdf (pristup 10. rujna 2018.)
11. http://matematika.fkit.hr/novo/izborni/predavanja/Stabilnost_i_Grobman-Hartmanov_teorem.pdf (pristup 10. rujna 2018.)
12. http://matematika.fkit.hr/novo/izborni/predavanja/Dinamika_kemostata.pdf (pristup 14. ožujka 2018.)
13. Sontag, E. D., *Lecture Notes on Mathematical Systems Biology*, Northeastern University, (2018) str. 35.
14. Arrowsmith, D. K., Place, C. M., *Dynamical Systems: Differential Equations, Maps, and Chaotic Behaviour*, Chapman & Hall, London (1992) str. 13.

9. PRILOZI

9.1. Kod koji definira sustav diferencijalnih jednadžbi

```
function dy = f(t, y, Kmax, Km, D, alfa, Cspr)
dy = [y(1) * (Kmax*y(2) / (Km+y(2)) - D);
      -alfa*y(1) * Kmax*y(2) / (Km+y(2)) - D*y(2) + D*Cspr];
% y(1) je koncentracija mikroorganizama
% y(2) je koncentracija hranjivih tvari
end
```

9.2. Kod za rješavanje sustava te crtanje vremenskog prikaza i trajektorije

```
clc
clear all
close all

disp('parametri:');
Kmax = input('Kmax = ');
Km = input('Km = ');
D = input('D = ');
alfa = input('alfa = ');
Cspr = input('Cspr = ');

disp('pocetne vrijednosti:');
N0 = input('N0 = ');
C0 = input('C0 = ');

disp('pocetno i konacno vrijeme:');
t0 = input('t0 = ');
t1 = input('t1 = ');
k = input('korak = ');

[t, y] = ode15s(@f, [t0, t1], [N0, C0], [], Kmax, Km, D, alfa, Cspr);

% vremenska ovisnost koncentracija
figure(1)
plot(t, y)
xlabel('t')
ylabel('N, C')
legend('mikroorganizmi', 'hranjive tvari')
grid
```

```

% vrijednosti koncentracija u vremenu od t0 do t1
tt = [t0:k:t1];
yy = interp1(t,y,tt,'spline');
tNC = [tt' yy];
array2table(tNC,...
    'VariableNames',{'t','N','C'})

% trajektorija
figure(2)
NN = y(:,1);
CC = y(:,2);
plot(NN,CC)
xlabel('N(t)')
ylabel('C(t)')
grid

hold on

% fiksna točka
fc = D*Km/(Kmax-D);
fn = (Cspr-fc)/alfa;
plot(fn,fc,'x','color','r','MarkerSize',10)

```

9.3. Kod za rješavanje sustava te crtanje vremenskog prikaza i trajektorije

```

clc
clear all
close all

Kmax = 2.5;
Km = 0.5;
D = 1.5;
Cspr = 1;
disp('1. par pocetnih uvjeta:');
N0_1 = input('N0 = ');
C0_1 = input('C0 = ');
disp('2. par pocetnih uvjeta:');
N0_2 = input('N0 = ');
C0_2 = input('C0 = ');
disp('3. par pocetnih uvjeta:');
N0_3 = input('N0 = ');
C0_3 = input('C0 = ');
disp('4. par pocetnih uvjeta:');
N0_4 = input('N0 = ');
C0_4 = input('C0 = ');

```

```

disp('Skala na x osi: ');
xos = input('0 do ');

alfa1 = Kmax/D;
alfa2 = Cspr/Km;
y_1 = 1/(alfa1-1);

fx = alfa1*(alfa2-(1/(alfa1-1)));
fy = (1/(alfa1-1));
ft =
plot(fx,fy,'x','color','k','MarkerSize',10,'HandleVisibilit
y','off');
hold on

xx = 0:0.1:20;
yy = 0:0.1:5;

[x,y] = meshgrid(xx,yy);
dn = alfa1*x.*y./(y+1)-x;
dc = -x.*y./(y+1)-y+alfa2;
quiver(x,y,dn,dc,7,'color',[0.5 0.5
0.5],'HandleVisibility','off');

null1y = [0:0.01:3*fy];
null1x = alfa2 - null1y - 1 + alfa2./null1y;
plot(null1x,null1y,'k','HandleVisibility','off')
null2x = [0 10*fx];
null2y = [y_1 y_1];
plot(null2x,null2y,'k','HandleVisibility','off')

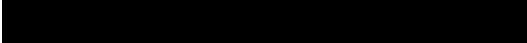
xy1 = streamline(xx,yy,dn,dc,N0_1,C0_1);
set(xy1,'color','r')
xy2 = streamline(xx,yy,dn,dc,N0_2,C0_2);
set(xy2,'color',[1 0.5 0])
xy3 = streamline(xx,yy,dn,dc,N0_3,C0_3);
set(xy3,'color','b')
xy4 = streamline(xx,yy,dn,dc,N0_4,C0_4);
set(xy4,'color','m')
hold on

xlabel('x')
ylabel('y')
uistack(ft,'top')

axis([0 xos 0 2.5])

```

10. ŽIVOTOPIS

 Klasičnu gimnaziju završila sam 2014. godine. Iste sam godine upisala preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradila sam u tvrtki Pliva Hrvatska d.o.o.